

# Élelmiszereink mikrobiológiai minőségvizsgálata gyors módszerekkel

## I. Szűrővizsgálati kísérletek rezazurinos redukcióval

GÁL ILONA EMMA ÉS BÉKÉS IMRE  
Fővárosi Élelmiszerellenőrző és Vegyvizsgáló Intézet, Budapest

Érkezett: 1971. június 8.

### I. Bevezetés

Az összes élőcsíraszám, a tisztasági fok az élelmiszerek mikrobiológiai állapotának egyik alapvető jellemzője, a mikrobás szennyezettség mértéke. Meghatározása klasszikus tenyésztéses módszerekkel 48–72 órát vesz igénybe, ezért mindenütt, ahol gazdaságossági szempontok bár kevésbé pontos, de gyorsabb tájékozódást tesznek szükségessé a mikrobiológiai állapotról, különböző gyors-módszereket vezettek be, vagy folytatnak kísérleteket alkalmazásukra.

A legmegfelelőbbnek eddig az ún. redukciós próbák mutatkoztak; ezek mikroorganizmusok reduktáz-enzim termelésének mennyiségét redox indikátorok színváltozásával mérik, mégpedig metilénkéssel, amelynek leuko-formája azonban a levegő oxigénjétől könnyen visszaoxidálódik és az alkalmazott festék-koncentrációk mellett a színváltozás értékelése is bizonytalan, vagy újabban inkább az érzékenyebb és redukciója során több színfokozatú rezazurinnal.

Elsősorban az iparban nagyjelentőségű a rezazurinos gyorsvizsgálat nyersanyag átvételénél, gyártásközi mikrobiológiai minőségellenőrzésnél. Legrégebben a tejiparban használják, *Pesch és Simmert* (1) munkássága alapján, ebben az iparágban alkalmazását szabványok is előírják (2). A konzerviparban *Mazohina*, majd *Fábrí és munkatársai* (3) kísérleteit követően *Huszka és Kiss* (4) ajánlották bevezetését saját vizsgálatok alapján; a húsiparban *Losonczyne* (5), a cukoriparban *Bidan és munkatársai* (6), valamint *Morfaux és munkatársai* (7) alkalmazták. Számos további tanulmány is foglalkozik ezzel a módszerrel: *Proctor és Greenlie* (8) friss és fagyasztott élelmiszerek, *Scott és Gillespie* (9) feltört tojások és tojáspor, *Johns* (10) tojáspor, *Hirschmann és Lightbody* (11) liofilizált tojáspor, *Straka és Stokes* (12) előrefőzött fagyasztott ételek, főleg szárnyas- és húspástétomok, tonhal, *Kereluk és Gunderson* (13) szintén fagyasztott ételek, *Ferguson, Yates és Jones* (14) főzelékfélék nyers és fagyasztott állapotban, *Wells* (15) baromfihús, *Fournaud és Mocquot* (16) csomagolt sertéshús, *Biró* édesvízi halhús és édesipari termékek vizsgálatánál próbálta ki a rezazurinos redukciót (17).

Az élelmiszerek minőségének hatósági, mikrobiológiai ellenőrzésénél igen előnyös volna a reduktáz-próba bevezetése (18), mégpedig a tenyésztéses eljárás elé iktatott szűrővizsgálatként. Ez ugyanis lehetővé tenné, hogy a minták közül kiszűrjük az előreláthatóan kifogásoltakat. Ha csak ezeket vetjük alá részletesebb vizsgálatnak, hatékonyabb, érdemi munkát végzünk és a felszabaduló idő, illetve kapacitás arra is lehetőséget adna, hogy az ismétlődő hibákat – a fogyasztótól fokozatosan visszafelé követve a termelőig – fázisvizsgálatokkal felderítsük és kijavíttassuk. Ilyen szűrővizsgálati elvet alkalmaznak pl. Angliában, a fagylaltvizsgálatnál: Metilénkékes redukcióval kiszűrjük a kifogásolt szeny-

nyezettségű fagylaltokat és csak ezeket vizsgálják meg alaposabban. A nem megfelelő terméket előállító termelőtől megvonják a gyártási engedélyt. Erélyes intézkedéseik eredményeképpen az országban 1947 óta nem volt fagylaltmérgezés (19).

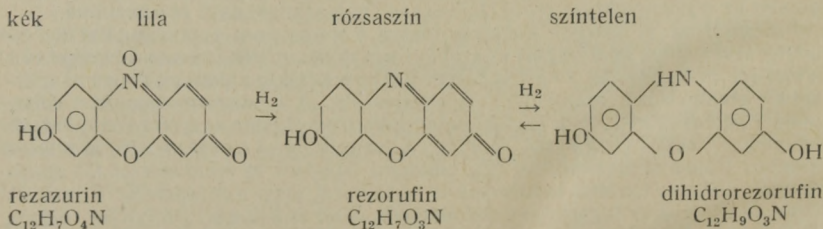
Fenti megfontolások alapján több száz esetben végeztünk különböző élelmiszerek mintáinál lemezöntéssel párhuzamos vizsgálatokat a rezazurinos redukció használhatóságának felmérésére.

## II. A kísérleti körülmények megválasztása

A reduktáz-próbát a tejparban úgy végzik, hogy a vizsgálandó tej alikvot részéhez kémcsőben hozzáadják a rezazurin oldatát és 30 perces, 37°C-os termosztálás után az elszíneződés mértékét színskála alapján értékelve következtetnek a valószínű csíraszámra (20.) Más élelmiszereknél ezzel szemben a viszonylag hosszú redukciós idők miatt általában a redukció időtartamát mérik és ebből következtetnek a mikrobás szennyezettség mértékére. Ezen a szokványon belül az egyes szerzők eltérő kísérleti körülmények között dolgoznak. Mi az irodalmi tapasztalatok (valamint a rezazurin tulajdonságainak) figyelembevételével igyekeztünk a célkitűzésünknek legjobban megfelelő módszert kialakítani:

### A rezazurin tulajdonságai, szerkezete

A rezazurin  $C_{12}H_7O_4N$ , amelyet *Weselski* állított elő 1871-ben 7-oxifenoxazon (2)–10-oxid. Vízben oldhatatlan redoxindikátor, a gyakorlatban nátriumsóját használják, ez 1%-ban vízoldható. Színváltozás kísérletében végbemenő redukálódási folyamatát alábbiakban tüntetjük fel:



Az első szakaszra a levegő oxigénje nincs hatással. (A második szakasznál óvakodni kell az oldat felkeverésétől, mert a szín újra visszafordul rózsaszínre.)

A rezazurin egyúttal sav-bázis indikátor is, pH 6,8 fölött kék, pH 6,3 alatt vörös. – A rezorufin pH 6,4 fölött vörös, 4,8 alatt sárgásnarancs színű.

A rezazurin hatását a metilénkékhez hasonlóan úgy fejti ki, hogy a jelenlévő élő sejtek (baktériumok, élesztő- és penészgombák, leukociták stb.) sejtlelékekeseor keletkezett piroszólósavval – mint hidrogénakceptor – verseng. *Kandler* szerint az elszíntelenedési reakciók a tejben a sejteken belül mennek végbe és ezeket extracelluláris fermentek a baktérium-tej-redoxfesték rendszerben nem katalizálják (20). Ez a megállapítás azonban nem feltétlenül érvényes más rendszerekre is, pl. *Losonczy* (5) közlése szerint a rezazurin próba nem alkalmazható a vágás után két napon belül feldolgozott húsoknál a friss izomszövet nagy reduktáz-aktivitása miatt, valamint nitrites sókeverékkel készült vörösrútöltelékek esetében sem a zavaró hatások következtében.

### A felhasználandó táptalaj kérdése

Az idézett szerzők többsége az általa vizsgált néhány termék vagy termékcsoport jellegének megfelelő táptalajt használt, vagyis tejvizsgálatoknál természetesen tejet, egyébként pedig olyan fiziológiás közeget, amelyet maga a vizsgáló élelmiszer látott el tápanyagokkal s azt legfeljebb még kiegészítette hiányzó tápanyagokkal. Pl. *Bíró* (17) a halhúst fiziológiás konyhasó oldatban vizsgálta, az édesipari termékeket pedig híg peptonos vízben. *Losonczyne* (5) 0,1% peptont tartalmazó fiziológiás foszfát puffert használt húsvizsgálataihoz tápközegül, *Huszka és Kiss* (4) borsó, illetve paprika tápoldatokkal dolgozott, *Bidan* és munkatársai (6), valamint *Morfaux* és munkatársai (7) cukorgyári levekkel.

Ez a gyakorlat alapján helyes is, bár elvileg nincs kizárva, hogy a kérdéses élelmiszer nem tartalmazza az összes tápanyagot a vegyes mikroflóra növekedéséhez szükséges optimális koncentrációban. Éppen ezért nagyobb biztonságot ad olyan táptalaj alkalmazása, amely bőségben tartalmaz minden szükséges tápanyagot. *Straka és Stokes* (12) ezt kísérletileg is igazolták oly módon, hogy komplett tápanyagot, triptikáz-szója főzetet készítettek pástétomvizsgálataikhoz tápközegül, ez feltehetően még stimuláló anyagokat is tartalmazott a jelenlevő mikroorganizmusok részére és így 30–50%-kal, vagyis 2–3 órával rövidebb redukciós időket értek el.

Az élelmiszerek úgyiszőlván teljes skáláját felölölő hatósági minőségellenőrző vizsgálatoknál a különböző jellegű és összetételű élelmiszerekre való tekintettel csakis valamely komplett táptalaj jöhet tekintetbe. Ez egyúttal egységes alapot ad a különböző mikroflórák redukálóképességének összehasonlítására és jobb reprodukálására.

Fentiek alapján komplett és egységes tápközeg, sterilizett sovány tej választottunk. Hasonló táptalajt – steril vízben oldott tejport – tudomásunk szerint csak *Ferguson* és munkatársai használtak fagyasztott főzelékfélék rezazurinos (14), *Novak* és munkatársai pedig garnélarakok és osztrigák metilénkékes vizsgálatánál (21).

### Inkubációs hőmérséklet

Ez a különböző szerzőknél általában 30–37°C között van. *Straka és Stokes* (12) 30, 35 és 37°C-on végzett összehasonlító kísérletei szerint a mikroflóra fejlődése 37°C-on 40–50%-kal gyorsabb volt, mint 30°C-on. Saját előkísérleteink hasonló tapasztalatokat eredményeztek és ezért inkubációs hőmérsékletnek egységesen a 37°C-t választottuk.

### Zavaró színhatások és a végpont kérdése

Amíg a tejmikroflóra vizsgálatánál a rezazurin redukciós folyamatának összes színárnyalatai, a rózsaszín, sőt már a lila is jól észlelhetők, addig sok más élelmiszer saját, illetve adalékanyagoktól származó színe elfedi a rózsaszínt és a színtelen észlelését is zavarja. Így pl. *Kereluk és Gunderson* (13) figyeltek meg ilyen zavaró hatást előrefőzött, fagyasztott marhahús-pástétomnál, borsónál és babnál, amely a redukciós időt látszólag megnyújtotta. *Johns* tojáspor vizsgálatánál találkozott nehézségekkel a végpont rögzítésében (10). Mi ezt a nehézséget – mint több más szerző is – rezazurin nélküli vakpróbák segítségével igyekeztünk kiküszöbölni.

### III. Kísérleti rész

#### *Steril tej-táptalaj készítése*

A sovány tejet a Budapest és Vidéke Tejipari Vállalattól szereztük be, pH=7,9 ml-enként kémcsövekbe töltöttük, majd 3 napon át áramló gőzben 100 °C-on 30 percig sterilizáltuk. Hűtőszekrényben 2–3 hónapig volt tárolható.

#### *A reagens készítése*

A rezaurin tablettákat a Ferrokémia Ktsz-tól szereztük be. Használat előtt 1 tablettát (2,5 mg rezaurin tartalmú) feloldottunk 50 ml frissen kifőzött és lehűtött desztillált vízben. A reagenst fénytől óvtuk és 24 óránál tovább nem tároltuk.

#### *A vizsgálat menete*

Az élelmiszereket rezaurinnal többnyire tízszeres hígításban vizsgáltuk. Folyadékokból (pl. fagylalt, üdítőital) közvetlenül 1 ml-t mérünk be a kémcsőben levő steril tejhez, homogén örleményekből (pl. porított fűszerek) vagy pépekből (pl. parajkrém) összekeverés után 1 g-ot. Egyéb vizsgálati anyagokból eldörsöléssel készítettük el a tízszeres hígítású törzsszuspenziót.

Minden kémcső tartalmához 1 ml rezaurin oldatot adtunk, egyidejűleg rezaurin nélküli vakpróbát is készítettünk. A kémcsöveket kb. 15 percig 37 °C-os vízfürdőben tartottuk, utána 37 °C-os termosztátba tettük át és általában félóránként, ha szükségesnek mutatkozott gyakrabban is leolvastuk a színét. Végpontnak azt az időpontot tekintettük, amikor a próba színe (pontosabban: a kémcső alsó  $\frac{4}{5}$  részének színe) elérte a rezaurin nélküli próba színárnyalatát. Egyes élelmiszereknél (fűszerek) a jobb leolvashatóság kedvéért (tejjel) százszoros hígításokat készítettünk.

A redukciós idők megrövidítésére – kísérleti célból – 30 °C-os termosztátban való több órás tárolással esetenként felszaporítottuk a (kiindulási) csíraszámokat. Megjegyezzük, hogy úgyszintén kísérleti céllal, a matematikai-statisztikai összefüggések jobb felismerésére mintáink 10×-es (illetve 100×-os) hígítása mellett nagyobb hígításokat is készítettünk és ezeket önálló, megfelelő hígítású mintaként kezeltük.

Általában 3 – jó egyezés esetén később 2 – párhuzamos kémcsövet oltottunk le. A párhuzamos mintákkal mért redukciós idők között az értékelhetőnek minősített mintáknál a piros szín megjelenéséig félórás, ettől számítva pedig a végpontig 15 perces eltérést fogadtunk el.

Az összehasonlító vizsgálatokat lemezöntéssel végeztük, az MSZ 3644 szerinti univerzál táptalajon, azonos törzsszuspenziókból. Inkubálás: 24 óráig 28 °C-os, 24 óráig pedig 37 °C-os termosztátban.

#### *Előkísérletek (Modellkísérletek)*

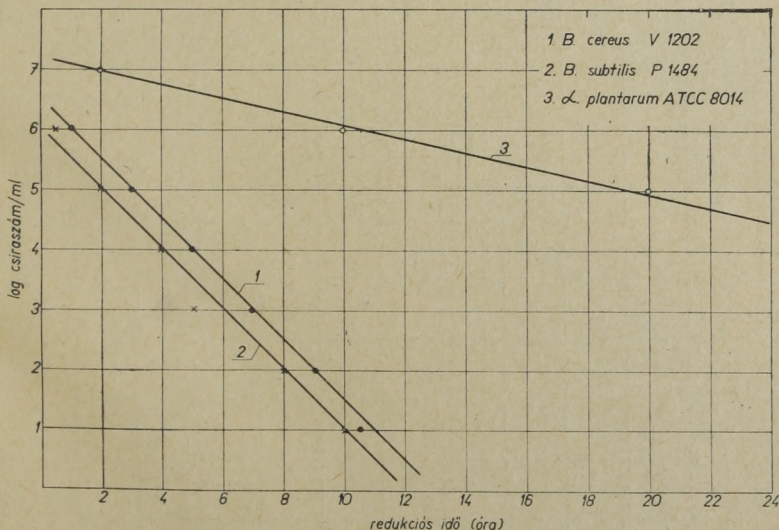
Mintáinkban bekövetkező redukciós folyamatok saját tapasztalatokon nyugvó jobb értékeléséhez néhány modellkísérletet folytattunk élelmiszerekben gyakran előforduló mikrobák törzseivel. E törzsek ismert élőcsíraszámú folyékony tenyészetekből hígítási sorokat készítettünk, tejjel, majd a rezaurin hozzáadás után 37 °C-on 24 órán át inkubáltunk; az elszíntelenedésig félóránként, szükség szerint még gyakrabban leolvastuk, követtük a színváltozást, az elszíntelenedés időpontját mint végpontot feljegyeztük. A következő törzsekkel dolgoztunk: *B. cereus* V 1202, *B. subtilis* P 1484, *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014, *Saccharomyces ellipsoideus* T<sub>22</sub>, *Saccharomyces carlsbergensis*

#### IV. Kísérleti eredmények és értelmezésük

Modellkísérleti eredményeinket az 1. ábrán mutatjuk be.

Az 1. ábrából látható, hogy a különböző baktériumok redukázaktivitása igen különböző. A *B. cereus* és a *B. subtilis* intenzíven és közel egyenlő mértékben redukáltak, egy  $10^5$ /ml szuszpenziójuk pl. 3 óra alatt elszíntelenítette a rezaurint; a *L. plantarum* egyező koncentrációjú szuszpenzióban lényegesen gyengébben redukált, 20 óra alatt színtelenített. Az élesztőket az ábrában egyáltalán nem tüntettük fel, mert legtömegebb, kiindulási  $10^5$ /ml szuszpenziójuk a teljes megfigyelési idő, 24 óra alatt sem színtelenítette el az indikátort az adott körülmények között. Megjegyezzük, hogy az élesztők is kifejtettek azért bizonyos redukáz-aktivitást, piros rezorufint hoztak létre, sőt a kémcső alsó harmadában levő folyadék ki is fehéredett. Eddig az állapotig mindkét élesztőtörzsünk  $10^5$ /ml-es szuszpenziójában 6–7 óra alatt,  $10^4$ /ml-nél pedig 20–23 óra alatt eljutottak az indikátortartalmú tápoldatok, itt azonban megakadt a reakció és a teljes elszíntelenedés nem következett be.

A mikroorganizmusoknak ezt az igen különböző redukáló képességét irodalmi tapasztalatok is alátámasztják. Így pl. Kandler 10 millió/ml kiindulási csíraszám mellett *Streptococcus lactis*-nál 70 perces, *Streptococcus faecalis*-nál 212 perces, *Escherichia coli* és *Aerobacter aerogenes*-nél 137–180 perces és egy oltóképző mikrokoccusznál 267 perces elszíntelenedési időt talált (20). Ez a nagyon eltérő redukáló képesség a specíesek között és egyes törzsekben belül egyik oka annak, hogy az élelmiszerek keverék-mikroflórájának redukáló képessége a csíraszám függvényében csupán igen tág, egy vagy több órás intervallumokban és még így is csak nagy hibaszázalékok mellett adható meg.



1. ábra

Különböző mikroorganizmusok rezaurint elszíntelenítő hatása 37 °C-on, steril tej táptalajban

- 1) *B. cereus* V 1202
- 2) *B. subtilis* P 1484
- 3) *L. plantarum* ATCC 8014

### Élelmiszerek mikroflórájának redukázaktivására vonatkozó tapasztalatok

Különböző élelmiszeripari termékeknél felméréssel jelleget összesen 374 esetben végeztünk párhuzamos redukációs-lemezöntéses méréseket. Vizsgálataink eredményeit, illetve tapasztalatait 3 részre bontva ismertetjük.

1. A méréseink alapján legjobban értékelhető eredményeket *tejfagylaltok*-nál kaptuk, valamint a tejes italok csoportjában, sovány tejes kakaónál. A fagylalteredményeket a 2. ábrában mutatjuk be.

Az ábrázolt mérési pontokból megszerkesztett egyenes egyenlete a fagylaltoknál

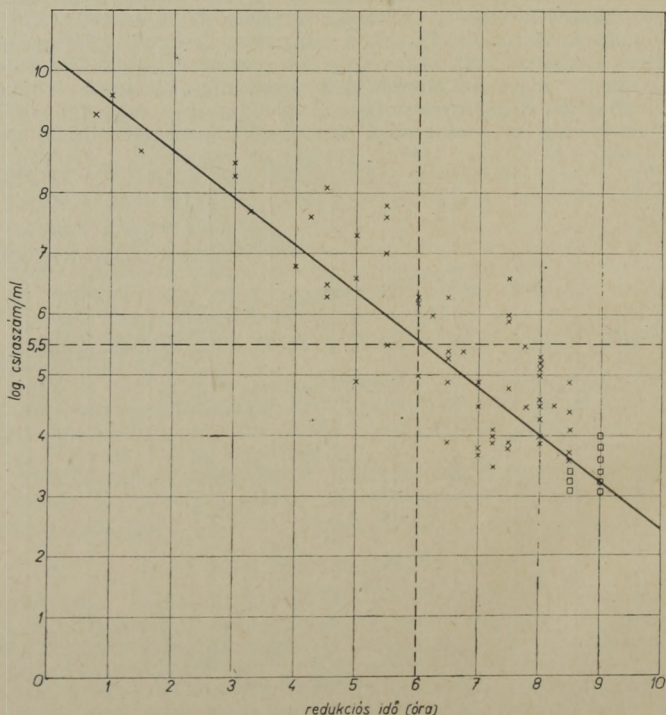
$$y = 10,2 - 0,78x,$$

ahol  $y$  = a log csíraszám,

$x$  = a redukációs idő órában.

A korrelációs együttható  $-0,86$ -nak adódott, ami azt jelenti, hogy a csíraszám és a redukációs idő közti összefüggés szignifikánsnak vehető (22).

Ha az egyenletbe az  $y$  helyébe behelyettesítjük a kritikus csíraszámot, vagyis azt az összes élőcsíraszám/ml értéket, ami fölött a mikrobás szennyezettség már



2. ábra

Tejfagylaltok mikroflórájának rezaurint elszíntelenítő hatása 37 °C-on, steril tej táptalajban  
= A megfigyelési idő végéig nem volt elszíntelenedés.

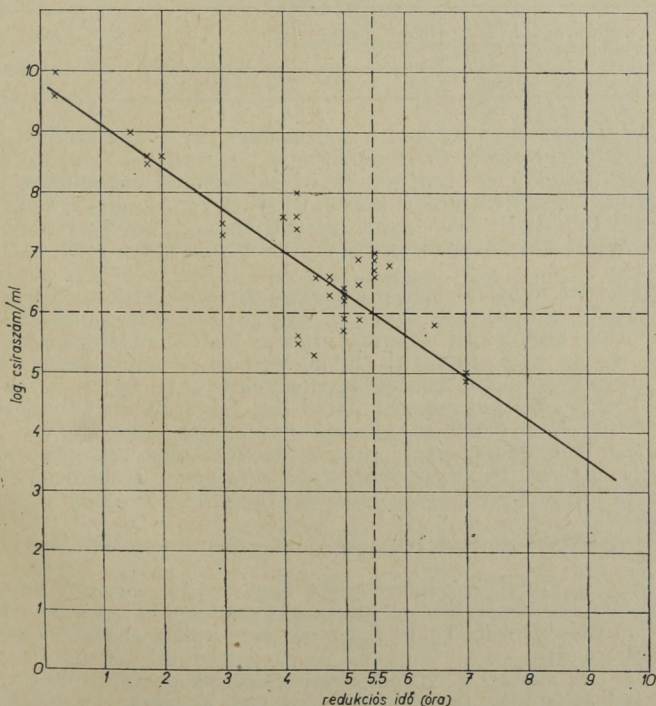
kifogásolható, a hozzátartozó  $x$  értékek a kritikus redukciós időt adják meg, vagyis azt az időtartamot, amelyen belüli elszíntelenedés a fagyalt kifogásolhatóságára utal, tehát további tenyésztéses stb. vizsgálatokat tesz szükségessé.

A tejfagylaltoknál a jelenlegi irányszámot,  $3,10^5$ /ml-t tekintve kritikus csíraszámúnak (23), a kritikus redukciós idő – a fagyaltok tízszeres hígítása mellett – 6 óra, ami az ábrából leolvasható. Leolvasható az ábrából továbbá az is, hogy a redukciós idő a 68 mérés közül 3 esetben volt 6 órán belül olyan mintáknál, amelyek a kritikusnál kisebb csíraszámúnak adódtak lemezöntéses vizsgálattal, 7 esetben pedig az elszíntelenedési idő 6 óránál hosszabbnak adódott a kritikusénál nagyobb csíraszámú mintáknál. A lemezöntéses módszer eredményétől való eltérés százalékos gyakorisága tehát 15%.

A tejes kakaóra vonatkozó mérési adatokat (35 mérés, a minták a tejipar „sovány tejes kakaó” feliratú, műanyagcsomagolású gyártmányai voltak) a 3. ábrában szemléltetjük.

A mérési pontokból megszerkesztett egyenes egyenlete itt

$$y = 9,8 - 0,69x.$$



3. ábra

Tejes kakaóital mikroflórájának rezaurint elszíntelenítő hatása 37 °C-on, steril tej táptalajban

A korrelációs együttható  $-0,81$ -nek adódott, vagyis a csíraszám és redukciós idő közti összefüggés itt is szignifikánsnak vehető. A tejes italok szennyezett-ségére vonatkozó jelenlegi irányszámok közül  $10^6$ /ml-t tekintve kritikus összes élőcsíraszámnak, a kritikus redukciós idő  $5,5$  óra. Hibás redukciós időket kap-tunk  $11$  mintánál,  $6$ -nál túl rövidet,  $5$ -nél pedig túl hosszút, a lemezöntéses módszer eredményétől való eltérés százalékos gyakorisága tehát  $31\%$ .

Irodalmi adatokkal egybevetve a fenti két termékcsoportnál megállapított hibaszázalékok részben jobbakk, részben valamivel kedvezőtlenebbek, mint a *Barthel* és *Orla* – *Jensentől* a tej-mikroflóra metilénkékes redukciójára meg-adott hibaszázalék,  $25\%$  ( $20$ ).

$2$ . Méréseink alapján *elbíráható*nak mutakozó termékeknél bizonyos összefüggéseket állapítottunk meg csíraszámok és redukciós idők között, vala-mint kritikus csíraszámokhoz tartozó redukciós időket rögzítettünk, ezekről az  $1$ . táblázatban adunk áttekintést.

7. táblázat

Élelmiszeripari termékek mikroflórájának rezaurin-redukciója steril tej táptalajban, elszíntelenedési végpontig

Termék	Minták		$10^4 - 10^5$   $10^5 - 10^6$   $10^6 - 10^7$   $10^7 - 10^8$				Kritikus csírasz./ml	Kritikus reduk. idő/óra
	száma	hígítása	csíraszámokhoz tartozó redukciós idő/óra					
Fekete bors örlemény .	54	$100\times$	7–8	6–7	5–6	–	$10^6$	6
Gyorsfagyasztott parajkrém . . . . .	25	$10\times$	$> 5,5$	$3,5-5,5$	$< 3,5$		$5,10^5$	$5,5$
Gyulai kolbászkrém . . .	43	$10\times$	$> 6$	$4-6$	$3-4$	$< 3$	$10^7$	4

Megjegyezzük, hogy – mint a táblázatban fel is tüntettük – a borsot  $100\times$ -os hígításban kellett vizsgálnunk, mert a szokványos tizszeres hígításnál az elszíntelenedési végpont nem volt élesen észlelhető. – Megemlítjük továbbá, hogy a gyulai kolbász kultúrával készül, itt voltaképpen nincs is kritikus felső határ, mégis  $10^7$ /g talált élőcsíraszám már valószínűvé teszi a termék nagyobb-mérvű szennyezettségét, ilyen esetben további vizsgálatok (coli stb.) válnak szükségessé.

$E$  csoportba sorolható még a gyorsfagyasztott, blansírozott zöldborsó is (mintaszám  $20$ ), a redukciós idő  $5,10^5$ /g kritikus csíraszámánál kb.  $6$  óra volt. – Itt említjük, hogy a fűszerpaprikát  $10\times$ -es hígításban szintén nem tudtuk vizsgálni, csupán  $100\times$ -osban. Itt  $10^6$ /ml kritikus csíraszám mellett mintegy  $8$  óra redukciós időre volt szükség az elszíntelenedésig, ami – az ugyancsak  $100\times$ -os hígítású borshoz képest – igen sok. Egyúttal azt az érdekes megfigyelést tettük, hogy  $1000\times$ -es hígítás mellett is csak ugyanannyi volt a redukciós idő, nem több: Nincs kizárva, hogy olyan alkotórésze van a fűszerpapriká-nak, amely nagyobb töménységben gátolja a rezaurin redukálódását és így elnyújtja az elszíntelenedési időt. E kérdés tisztázására további vizsgálatokra volna szükség.

$3$ . *Értékelhetetlen* eredményeket kaptunk a következő termékek vizsgálá-tánál:

*Párizsi* ( $20$  minta). A redukciós idők igen rövidek voltak ( $1$  órán belül), annak ellenére, hogy lemezöntéssel alacsony, megfelelő csíraszámokat találtunk. A minták nitrítés sókeverékkel készülhettek, ezért voltak alkalmatlanok redukciós vizsgálatra ( $5$ ).

*Szőrpök* ( $12$  minta). A tenyésztéses csíraszámok csekélyek voltak,  $10^2$ /ml alatt, a redukciós idők ennek megfelelően igen hosszúak, meghaladták egy munkanap kereteit. A redukciós módszer csekély csíraszámoknál általában nem használható.



Szénsavas üdítő ital (Utas), 10 minta. A mintánkénti 3 párhuzamos különböző sebességgel színtelenedett el, igen hosszú, 20 órát meghaladó redukciós idők mellett, annak ellenére, hogy a lemezöntéses csírszám elég nagy volt,  $10^4$ /ml nagyságrendű. Megállapítottuk, hogy a mikroflóra zömét élesztők alkották, mint az üdítőitalokban többnyire. Így a jelenség – modellkísérleteinkkel összhangban – valószínűleg az élesztők csekély reduktázaktivitására vezethető vissza, az pedig, hogy végül mégis bekövetkezett a teljes elszíntelenedés, a jelenlevő keverékflóra egyéb törzseire. Úgy látszik, hogy ebben a termékcsoportban a rezaurinos redukciós idő és az élőcsírszám becslésére nem alkalmazható. *Zöld-ségletes, szárítottmány* (Szegedi Konzervgyár készítménye) (10 minta). A redukciós idő és az összesírszám összhangja nem volt megfelelő. *Cukrászsütemények és gesztenyepüré-*, illetve massa (45 minta). A redukciós idő és a csírszám között nem volt megfelelő összhang.

Saját adataink mellé kiegészítésül és összehasonlításként a hozzáférhető irodalomból összeállítottunk néhány rezaurinos redukcióval kapott vizsgálati eredményt; ezeket a 2. táblázatban tekinthetjük át.

2. táblázat

Élelmiszeripari termékek mikroflórájának rezaurin-redukciója tízszeres hígításban, különböző tápoldatokban, elszíntelenedési végpontig, irodalmi adatok szerint

Termék	$10^1 - 10^4$	$10^1 - 10^5$	$10^5 - 10^6$	$10^6 - 10^7$	$10^7 - 10^8$	Irodalmi-hivatkozás
	csírszámokhoz tartozó redukciós idő/óra					
Sertéshús .....	—	> 7	> 6	> 4	< 2	(5)
Marhahús .....	—	> 8	> 6,5	> 4,5	< 2,5	(5)
Fagyasztott ételek .....	> 8	6-8	3-6	< 3	—	(13)
Húspástétomok .....	—	> 5	3-5	< 3	—	(12)
Édesvíz hal .....	—	—	—	3-4,5	—	(17)
Édesipari termékek, olajos magvak .....	> 8	6-7	—	—	—	(17)
Cukorgyári diffúziós lé .....	—	> 7	> 6	—	> 4	(6)
Zöldborsó, nyers (füllesztett) .....	—	—	2	1,25	0,5	(4)
Cecei paprika, nyers (füllesztett) .....	—	—	—	2	1,25	(4)

Ha a rendelkezésünkre álló saját és irodalmi tapasztalatok alapján megpróbálnánk valamilyen általánosabb következtetést levonni a (rezaurinos) redukció használhatóságára és a lehető hibaforrásokra vonatkozólag, a következőket mondhatnánk:

Úgy látszik, hogy az eljárás olyan élelmiszereknél használható leginkább, amelyeknél a csírák természetes környezetükben és körülmények között akadálytalanul fejlődhetnek, tehát növényi és állati eredetű nyersanyagok, pl. tej, húsfélék, zöldségfélék esetében, vagy ahol valamilyen csírapasztó hatás a feldolgozás során érte ugyan a terméket, de annak elmúltával újra megindulhatott a szaporodás, a közeg kedvez a fejlődésnek (pl. fagyaltok, tejes italok, cukorgyári diffúziós levek). Ilyen esetekben a hibaforrás (csupán) a keverékflóra heterogenitásában (ez persze származási hely, évszárak stb. szerint is változhat), valamint a mikroorganizmusok fejlődési ciklusának különböző fázisaiban adódó aktivitási különbségekben keresendő. Ez az utóbbi ugyan jelentékeny tényező lehet *Bidan* és munkatársai mérései szerint (6), akik cukorgyári levekben egyező rezaurin elszíntelenedési időket találtak  $10^5 - 10^6$  aktív, logaritmikus fázisban levő és  $10^7 - 10^8$  stacioner fázisban levő, úgyszintén  $10^4$  aktív és  $10^5 - 10^6$  stacioner állapotú tenyészetekben, de összhatásában mégsem gátolja a módszer használhatóságát a gyors tájékozódás szempontjából.

Ezzel szemben, ha az élelmiszer mikroflóráját feldolgozás során olyan hatások érték, amelyek zömben inaktív, de reaktíválható állapot kialakulásához vezetnek (pl. szárítás, hőkezelés és gyorsfagyasztás, bakteriosztatikus tartósító

szerek) és ez az állapot a fogyasztásig, vagy a mikrobiológiai vizsgálat megkezdéséig fennáll, akkor feltehető, hogy a reduktáz-aktivitás mérése különböző eredményeket szolgáltat aszerint, hogy a reaktiválódási lehetőség létesülése óta mennyi idő telt el, a csírák hány százaléka aktív és képes (intenzív) redukálásra. *Ferguson* és munkatársai (14) pl. mérésekkel bizonyították, hogy gyorsfagyasztott zöldségféléből (zöld-, sárga- és lima bab), ha azokat steril vízzel hozta össze 1:1 arányban (rendszer hőmérséklete +3 °C), a rezazurinos redukció 4 órán belül beállítva hamis eredményeket szolgáltatott, a nagy spóraszennyezettségű termékeknel semmivel sem rövidebb a redukciós idő, mint a csekély spóraszennyezettségűeknél; csak 4 óra elteltével kapott megközelítően helyes, a lemezszámmal összhangban levő redukciós időket. Úgy látszik tehát, hogy ilyen termékeknel érdemes volna terméktípusonként változó körülmények között a rezazurinos redukció elé egy „reaktíválódási időt” iktatni és ezáltal ezeket a termékeket is hozzáférhetővé tenni a redukciós gyorsmódszer számára.

Köszönettel tartozunk Andréka Ágnes munkatársunknak a kísérletekben való közreműködésért, továbbá Fekete Tiborné és Ecsedi Ákosné munkatársainknak az összehasonlító lemezszámok vizsgálatáért.

#### IRODALOM

- (1) *Pesch, K. L., Simmert, U.*: *Milchwirtschaftliche Forschungen* 8,551 (1929).
- (2) MSZ 12254-61; Standard Methods for the Examination of Dairy Products, 10<sup>th</sup> Ed. 1953. American Public Health Association Inc. New York.
- (3) *Fábi I.* és munkatársai: *Konzerv és Paprikaipar*, 223 o. 1964.
- (4) *Huszka T., Kiss S.*: *Konzerv- és Paprikaipar*, 235 o. 1966.
- (5) *Losonczy S.-né*: *Húsipar* 18, 161, 1969; 19, 228 1970.
- (6) *Bidan, P., Genetelle, J., Rousseau, G., Stambul, J.*: *Ind. Alim. Agr.* 83, 915, 1966.
- (7) *Morfaux, J. N., Sarris, J., Bidan, P.*: *Ind. Alim. Agr.* 86, 513, 1969.
- (8) *Proctor, B. E., Greenlie, D. G.*: *Food Research* 4, 44, 1939.
- (9) *Scott, W. J., Gillespie, J. M.*: *Australia Council Sci. Ind. Research J.* 17, 229, 1944.
- (10) *Johns, C. N.*: *Sci. Agr. Ottawa* 24, 373, 1944.
- (11) *Hirschmann, D. J., Lightbody, H. D.*: *Food Research* 12, 372, 1947.
- (12) *Straka, R. P., Stokes, J. L.*: *Food Research* 22, 412, 1957.
- (13) *Kereluk, K., Gunderson, M. F.*: *J. Milk and Food Technol.* 22, 299, 1959.
- (14) *Ferguson, W. E., Yates, A. R., Jones, A. H.*: *Food Technol.* 12, 641 1958.
- (15) *Wells, F. E.*: *Food Technol.* 13, 584, 1959.
- (16) *Fournaud, J., Mocquot, G.*: *Société Française de Microbiologie*, 1966 jun. 2. (Idézve 5. nyomán).
- (17) *Biró G.*: *ÉVIKE* 12, 315, 1966.
- (18) *Gál I. E.*: *ÉVIKE* 15, 365, 1969.
- (19) *Ormay L.*: *Élelmezéségeszségügyi ellenőrzés c. előadásából Mikrobiológiai Mérnök-továbbképző Tanfolyam* 1971. május 25.
- (20) *Schormüller, J.*: *Handbuch der Lebensmittelchemie* Bd III. Teil 1. 1968. Springer Verlag Berlin - Heidelberg - New York p. 309.
- (21) *Novak, A. E., Fieger, E. A., Bailey, M. E.*: *Food Techn.* 10, 66, 1956.
- (22) *Körmendy L.*: *Bevezetés a biometriába* MTI, Ve 44, Budapest, 1964, 112. oldal.
- (23) *Ormay L.*: Szabályzat, 1970. Kézirat. MÉTE Mikrobiológiai Szakoszt.

### МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ БЫСТРЫМИ МЕТОДАМИ. I. ВЫДЕЛОЧНЫЕ ИСПЫТАНИЯ РЕЗАЗУРИНОВОЙ РЕДУКЦИЕЙ

*И. Е. Гал и И. Бэжеш*

Авторы проводили информативные испытания по быстрому определению — в течении 24 часов — всех живых микроб в разных продуктах питания на основании резазуриновой редукции и применения метода выделочных испытаний микробиологического контроля качества. В качестве питательной среды применяли стерильное молоко, конечным результатом считали время необходимое для обесцвечивания индикатора и достижения цвета безрезазуриновой слепой пробы. Сравнивая результаты с количеством микроб на пластине:

— Получены хорошие результаты в группе молочного мороженого и молочных напитков, где внедрение метода и в настоящее время считают осуществимым.

— Метод оказался приемлимым и у некоторых продуктов принадлежащих к прочим группам продукции (специй, замороженные овощи, колбасные кремы) для этих указывается время редукции относящееся к критическому числу микроб; в этой группе однако еще требуется дальнейшее испытание.

— Во многих группах продукции (например: сироп, фруктовых соках, фаршевых изделиях) полученные результаты по разным причинам не соответствовали целям.

Авторы — удостоверяя свои результаты литературными данными предлагают, чтобы в случае заражения продуктов инактивными но релативируемыми микробами, измерения эффекта инактивации, а также с учетом характера группы продукции „время реактивации“ проводили перед редуктазной пробой.

## MIKROBIOLOGISCHE QUALITÄTSPRÜFUNG UNSERER LEBENSMITTEL MIT SCHNELLMETHODEN. I. SELEKTIONSVERSUCHE VERMITTELS REDUKTION DES RESAZURINS

*I. E. Gál und I. Békés*

Die Verfasser führten orientierende Versuche zur raschen Bestimmung — binnen eines Arbeitstages — der Gesamtkeimzahl verschiedener Lebensmittel aufgrund der Reduktion von Resazurin durch Zweckes Anwendbarkeit der Methode als Selektionsverfahren in der mikrobiologischen Qualitätskontrolle. Sie verwendeten einheitlich einen sterilen Milch-Nährboden, als Endpunkt betrachteten sie die zur Entfärbung des Indicators, bzw. zur Erreichung der Farbe der ohne Resazurin verfertigten Blindprobe erforderliche Zeitdauer.

Verglichen mit den durch das Plattengussverfahren erhaltenen Keimzahlen:

— erhielten sie gut auswertbare Resultate in der Gruppe der Milchspeiseeise und Milchgetränke, bei diesen halten sie das Verfahren bereits für anwendbar.

— Das Verfahren erwies sich auch zur Prüfung einzelner zu anderen Gruppen (Gewürze, tiefgefrorene Gemüse, Wurstcreme) gehörender Produkte geeignet, bei diesen werden den kritischen Keimzahlen entsprechende Reduktionszeiten angegeben; in diesen Gruppen sind jedoch noch weitere Versuche erforderlich.

— Bei mehreren Gruppen der Lebensmittel (z. B. Syrup, Erfrischungsgetränke, Wurstwaren) waren die Resultate infolge verschiedener Ursachen nicht befriedigend.

Die Verfasser empfehlen aufgrund eigener Resultate und literarischer Angaben im Falle einer Kontamination mit inaktiven aber reaktivierbaren Keimen, unter Beachtung der inaktivierenden Wirkung, sowie der Eigenart der betreffenden Gruppe die Ausmessung einer „Reaktivierungszeit“, bzw. deren Einfügung vor die Reduktase-Probe.

## INVESTIGATION OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF FOODS BY RAPID METHODS

I. Attempts to carry out screening tests by reduction with resazurin

*I. E. Gál and I. Békés*

Orientative experiments were carried out to test the suitability of a rapid method of determination (within a working day) of the total number of viable germs in various foods, based on the reduction of resazurin, and, respectively,

to test the applicability of this method as a screening test in the control of the microbiological quality.

Sterile milk served throughout as nutrient. The period required for the complete decolorization of the indicator and, respectively, for attaining the tint of the blank test containing no resazurin was considered as the end point.

On comparison with the germ counts by the plate-cast method it was found that

well evaluable results were obtained in the group of ices made with milk and meals made with milk. In this group, the method is presumed to be introdu- ceable at once;

the method proved suitable for use also in case of certain products belonging to other groups of food products (such as spices, deep-frozen vegetables, sausage creams). Reduction periods pertaining to the critical germ counts are presented. However, still further investigations are needed in these groups;

in several groups of food products (such as syrups, soft drinks, Bologna- type sausages) the results were inadequate, due to various reasons.

The authors suggest, on comparing their own results with the data of liter- ature, for the case of food products contaminated by inactive but reactivable germs, to take into account a so-called reactivation period, and, respectively, to insert such a period prior to carrying out the reductase test, according to the actual inactivating effect and the nature of the group of foods in question.

## L'EXAMEN DE LA QUALITÉ DE NOS DENRÉES PAR MÉTHODES RAPIDES. EXPÉRIENCES DE DÉPISTAGE À RÉDUCTION AVEC DE LA RÉSAZURINE

*I. E. Gál, et I. Békés*

Les auteurs ont effectué des examens préalables relatives au dosage rapide (n'exigeant qu'une journée de travail) du nombre total des germes viables dans les genrées. La méthode s'appuie sur la réduction de la résazurine. Ils ont égale- ment considéré les possibilités d'employer la méthode comme épreuve de dépistage dans le contrôle microbiologique de la qualité des denrées. On s'est servi du lait stérilisé en tant que milieu nutritif uniforme, en considérant comme point final le temps nécessaire pour amener la décoloration de l'indicateur, c'est-à-dire pour atteindre la couleur du témoin qui ne contient pas de résazurine.

On a comparé les résultats ainsi obtenus avec les nombres des germes viables déterminés par dilutions successives dans des boîtes Petri et on a établi le suivant:

1. De bons résultats se faisaient obtenir avec les glaces ainsi que les boissons au lait. Par conséquent, on considère la méthode adoptable dans sa forme pré- sente.

2. La méthode s'avérait, en outre, utilisable chez les produits suivants: condiments, légumes surgelés, crème aux saucissons. Chez ces produits on a in- diqué comme résultat les temps de réduction correspondant aux nombres criti- ques des germes. Chez ces groupes de denrées le procédé exige, cependant, des examens ultérieurs.

3. Les résultats obtenus chez plusieurs autres groupes de denrées (p.e. jus de fruits, boissons rafraîchissantes, charcuterie) n'étaient, pour des raisons di- verses, pas satisfaisantes.

En comparant leurs résultats avec les données de la littérature, les auteurs proposent de mesurer — dans le cas d'une contamination avec des germes inactifs mais réactivables — le «temps de réactivation», tout en tenant compte du carac- tère de l'action inactivante, d'une part, et de celui du produit, d'autre part. Ce dernier examen peut être effectué avant l'épreuve de la reductase.